

290. Partialsynthese von Bufarenogin und Argentinogin

Über Bufadienolide, 42. Mitteilung¹⁾

von **Sigrid Spengel, Horst H. A. Linde** und **Kuno Meyer**

Pharmazeutisches Institut der Universität Basel

Herrn Prof. Dr. Theodor Posternak mit allen guten Wünschen zum 70. Geburtstag gewidmet

(8. X. 73)

Zusammenfassung. Es wird über die Struktur des Di-O-acetylbufarenogins (**9**) und die des Argentinoginins (**14**) abschliessend berichtet.

Über Teilaspekte der Struktur des freien, entacetylierten Bufarenogins (**9**) sind bereits zwei Veröffentlichungen erschienen [2–3]. Wir möchten hier über dieses Bufadienolid, wie auch über die Partialsynthese des Argentinoginins (**14**) [2] abschliessend berichten.

Durch NaBH₄-Reduktion von Arenobufagin (**1**) [4] erhält man die beiden Glykole **3** und **6**. NaBH₄-Reduktion der entsprechenden starreren C/D-*trans*-verknüpften Ring-C-Ketole lieferte dagegen nur das diäquatoriale Produkt [3]. Die Struktur der beiden Tetrole **3** und **6** ist aus den spektralen Daten der Triacetylverbindungen **4** bzw. **5**, respektiv aus denen der Diacetylverbindungen **7** und **8** ableitbar. **4** zeigt im NMR.-Spektrum (60 MHz, CDCl₃) das unaufgelöste Multiplett der drei AcO-CH Wasserstoffatome zwischen 4,75 und 5,3 ppm, **5** unter gleichen Bedingungen zwischen 5,0 und 5,35 ppm. Die berechneten chemischen Verschiebungen [5–6] stimmen in beiden Verbindungen recht gut mit den gefundenen Werten überein (s. Tab. 1). Ein zusätzlich in CDCl₃ aufgenommenes Spektrum (100 MHz) lieferte die Kopplungskonstante von C(11)-H-C(12)-H der Verbindung **4**²⁾ zu $\leq 3,5$ Hz und bestätigte damit die getroffene Strukturzuordnung. Vorsichtige Acetylierung von **6** ergab ein Gemisch von **7** und **8** (Hauptprodukt). **8** liess sich im System Chloroform/Essigester 1:1/ Aluminiumoxid nach und nach zum grössten Teil zu **7** isomerisieren. Im NMR.-Spektrum von **7** erscheint das C(12)-H bei 4,70 ppm als Dublett (10 Hz), in dem von **8** liegt das Signal des C(11)-H bei 4,96 ppm (Triplet, 10 Hz). Vergleicht man diese Aufspaltungen mit den entsprechenden der Verbindung **4**, so ergibt sich daraus eindeutig die angegebene Struktur der beiden Glykole: äquatorial-axiale Stellung in **3** bis **5** und diäquatoriale Lage der beiden Alkoholfunktionen in **7** und **8**. Die berechneten chemischen Verschiebungen der angulären Methylgruppen stimmen bei der Verbindung **7** sehr gut mit den gefundenen Werten überein, was nach *Zürcher* [5] wohl eher zufällig ist. Unzuverlässig wird eine Berechnung der chemischen Verschiebungen der Ring-C-Ketole. Hier kann man evtl. von Di-O-acetyl-bufarenogin (**9**) als Bezugssubstanz ausgehen und dann die chemische Verschiebung der angulären Methylgruppen in **10** durch Variation der Seitenkette «berechnen». Die so ermittelten

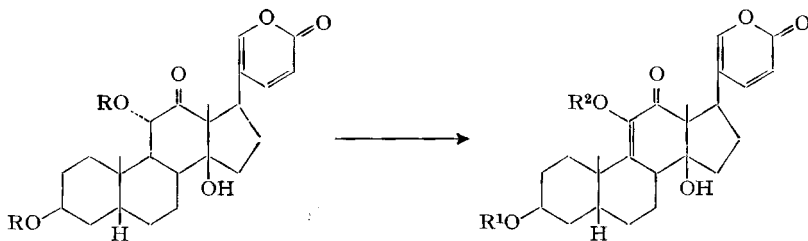
¹⁾ 41. Mitteilung siehe [1].

²⁾ Die Kopplungskonstante liess sich nur im partiell acetylierten 3 β ,11 α -Di-O-acetyl-derivat von **3** bertimmen.

Protonenresonanzsignale, aufgenommen in $CDCl_3$ (Tetramethylsilan = 0 ppm)

| | C(18)-3H | C(19)-3H | -O-CO-CH ₃ | Pyron etwa 3H, 12 Linien | C(3)-H | C(11)-βH | C(12)-αH | C(12)-βH |
|----|-----------------|-----------------|-----------------------|-----------------------------|--------------------|--|--------------------|---|
| 4 | 0,86 [0,851] | 1,01 [1,025] | 1,93 + 2,05 + 2,13 | 6,2-7,9 | 4,75-5,3 m | 4,75-5,3 m | | 4,75-5,3 m |
| 5 | 1,14 [1,124] | 1,02 [1,05] | 1,90 + 2,05 + 2,12 | | 5,0-5,35 m | 5,0-5,35 m (6 Linien, symmetrisch) | | 5,0-5,35 m (6 Linien, symmetrisch) |
| 7 | 0,75 [0,735] | 1,08 [1,075] | 2,03 + 2,16 | 6,1-7,8 | ≈ 5,07 BH ≈ 8 | | ≈ 4,70 d (10) | |
| 8 | 0,71 [0,835] | 1,06 [1,058] | 2,03 | 6,1-7,8 | ≈ 5,07 BH ≈ 7 | 4,96 t (10) | 3,26 d (10) | |
| 9 | 0,66 [0,68] | 1,24 [1,18] | 2,04 + 2,20 | 6,1-7,8 | ≈ 5,07 BH ≈ 7 | | 4,83 s BH ≈ 2,5 | |
| 10 | 0,91 [0,93] | 1,24 [1,27] | 2,04 + 2,20 | | ≈ 5,05 BH ≈ 7,5 | | ≈ 4,73 s BH 2,5 | CH ₃ -O: 3,73 |
| 11 | 0,94 [0,87] | 1,27 [1,20] | 2,05 + 2,18 | | ≈ 5,07 BH ≈ 7 | | 5,15 s BH 2 | C(15)-H: 5,54 BH 6 CH ₃ -O: 3,70 |
| 13 | 1,03 | 1,27 | 2,06 + 2,20 | | 5,05 | | 5,01 s BH ≈ 2,5 | |
| 14 | 0,98 | 1,30 | | 6,1-8,0 | ≈ 4,12 | | | |
| 15 | 0,98 | 1,29 | 2,07 | 6,1-8,0 | 5,07 | | | |
| 16 | 0,84 | 1,31 | 2,05 + 2,19 | 6,1-8,0 | 5,05 BH ≈ 9 | | | |

d = Dublett, m = Multiplett, s = Singulett, t = Triplett, BH = Signalbreite bei halber Höhe in Hz, () = Aufspaltungen in Hz, [] = berechnete chemische Verschiebungen nach [5-6].



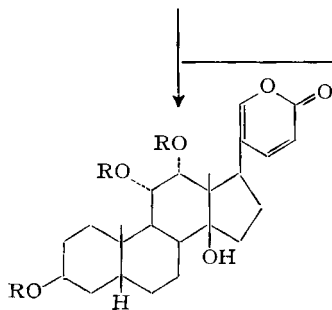
1 R = H
Arenobufagin [4]

2 R = Ac
Di-O-acetyl-arenobufagin [4]

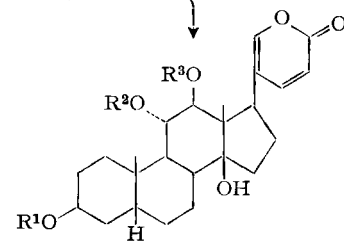
14 R¹ = R² = H
Argentinogenin [2]

15 R¹ = Ac, R² = H
3-O-Acetyl-argentinogenin

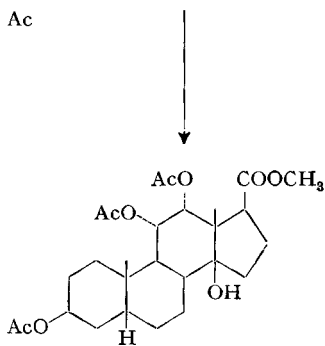
16 R¹ = R² = Ac
Di-O-acetyl-argentinogenin [2]



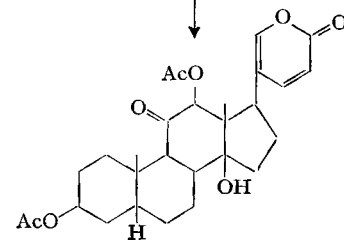
3 R = H
4 R = Ac



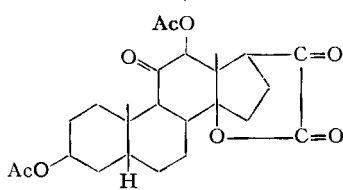
6 R¹ = R² = R³ = H
7 R¹ = R³ = Ac, R² = H
8 R¹ = R² = Ac, R³ = H



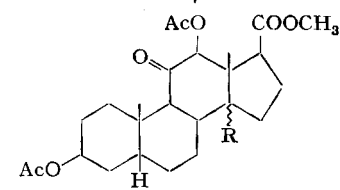
5



9 Di-O-acetyl-bufarenogin [2], [3]



13 Ketolacton [8]



10 R = β -OH [8]
11 R = 14, 15 en [8]
12 R = α -H [8]

Werte stimmen mit den gefundenen Verschiebungen befriedigend überein. **11** und auch **12** sowie **13** bis **16** lassen sich durch die Häufung ungesättigter Substituenten nur schwer vergleichen, wie *Zürcher* überzeugend dargelegt hat [5].

Oxydation von **8** lieferte Di-O-acetyl-arenobufagin (**2**) [4], die von **7** Di-O-acetylbufarenogin (**9**) [2]. Der oxydative Abbau [7] von **4** ergab, nach Veresterung der Carboxylgruppe, **5**, der von **9**, nach analoger Behandlung, **10** [8]. Hier wurde ausserdem aus dem Neutralteil der Oxydationsprodukte, das Ketolacton **13** [8] isoliert. Wasserabspaltung aus **10** führte zu **11** [8], dessen anschliessende Hydrierung zu **12** [8] [3]. Damit ist die früher [3] [8] auf anderem Wege erfolgte Zuordnung der Struktur **12** bestätigt. Bei der Oxydation von Arenobufagin (**1**) mit Bi_2O_3 in Eisessig bei 100° erhielten wir ausser dem erwarteten Argentinoginin (**14**) [2] auch wenig 3-O-Acetylarginoginin (**15**). Acetylierung von **14** und **15** lieferte jeweils **16** [2].

Herrn Prof. Dr. T. Reichstein sind wir für die Überlassung kostbarer Proben von Di-O-acetylarginoginin (**16**) und Di-O-acetylbufarenogin (**9**) zu grossem Dank verpflichtet. Den Herren Drs. W. Arnold, G. Englert und W. Vetter sowie P. Casagrande, W. Grunauer, B. Meier, W. Meister und Fr. F. Niklaus von der Hoffmann-La Roche & Co. AG., Basel und Herrn Prof. Dr. C. Pascual, Physikalisch-Chemisches Institut der Universität Basel (jetzige Adresse: Facultad de Ciencias Ciudad Universitaria de Canto Blanco, Madrid, España) sei für die Aufnahme und Mithilfe bei der Interpretation der Massen- und einiger NMR.-Spektren herzlich gedankt. Die Arbeiten wurden ausserdem vom Schweizerischen Nationalfonds zur Förderung der wissenschaftlichen Forschung unterstützt.

Experimenteller Teil

Allgemeines: Siehe [11].

Reduktion von 1 zu 3 und 6. 1,20 g Arenobufagin (**1**), Smp. $227\text{--}239^\circ$, wurden in 75 ml 2-Propanol gelöst, mit 600 mg NaBH_4 in 10 ml 2-Propanol versetzt und 30 Min. bei Raumtemp. gerührt. Nach DC. (Essigester/Methanol 99:1) war dann alles Ausgangsmaterial verbraucht. Man verdünnte die Mischung mit 50 ml Wasser, zersetzte das überschüssige NaBH_4 mit Eisessig, entfernte das 2-Propanol im Vakuum, schüttelte mit je 100 ml Chloroform/Äthanol 7:3 aus, wusch mit Wasser, 1proz. NaHCO_3 -Lösung und wieder mit Wasser, trocknete die organische Phase über Na_2SO_4 und engte ein: 1,20 g Rückstand. DC. (Essigester/Methanol 99:1): 2 Flecke, polarer als Arenobufagin (**1**). Die Chromatographie des rohen Reduktionsproduktes (1,20 g) an 850 g SiO_2 ergab (Fliessmittel Essigester/Methanol 99:1, Frakt. von je 35 ml): in Frakt. 63–74 566 mg **3**, aus Methanol/Äther kristallisierten 556 mg nach DC. (Essigester/Methanol 99:1) einheitliche Prismen vom Smp. $255\text{--}270^\circ$ (Sint. ab 170°). Die Umkristallisation aus Methanol/Äther ergab Prismen vom Smp. $195\text{--}198^\circ/258\text{--}275^\circ$ (Sint. $175\text{--}180^\circ$), $[\alpha]_D^{23} = +10,4^\circ$ ($c = 1,05$, Dioxan). – MS.: M^+ bei m/e 418 = $\text{C}_{24}\text{H}_{34}\text{O}_6$. $\lambda_{\text{max}}^{\text{Äthanol}} = 298 \text{ nm}$ ($\epsilon = 5580$). In Frakt. 75, 13 mg eines 1:1-Gemisches von **3** und **6**, in Frakt. 76–105 433 mg **6**, aus Methanol/Äther kristallisierten 388 mg nach DC. (Essigester/Methanol 99:1) einheitliche Prismen vom Smp. $165\text{--}169^\circ$ (Sint. ab 155°). Die Umkristallisation aus Methanol lieferte Prismen vom Smp. $161\text{--}165^\circ$ (nach Sintern bei $150\text{--}155^\circ$). $[\alpha]_D^{24} = +17,4^\circ$ ($c = 1,01$, Pyridin); $[\alpha]_D^{24} = -5,7^\circ$ ($c = 1,03$, Dioxan). – MS.: m/e 400 = $(\text{C}_{24}\text{H}_{34}\text{O}_6 - \text{H}_2\text{O})$. $\lambda_{\text{max}}^{\text{Äthanol}} = 298 \text{ nm}$ ($\epsilon = 5480$).

Acetylierung von 3 zu 4. 250 mg der Trihydroxyverbindung **3** wurden in 5 ml Pyridin und 3 ml Essigsäureanhydrid 18 Std. bei 37° acetyliert. Übliche Aufarbeitung ergab 335 mg rohes Acetat, das man an 30 g regeneriertem [9] SiO_2 chromatographierte in Frakt. von je 20 ml. Chloroform/Essigester 8:2 eluierte in Frakt. 13–17 216 mg **4**, DC. (Chloroform/Essigester 1:1): schwach mit einer unpolaren Substanz verunreinigt, in Frakt. 18 23 mg nach DC. (Chloroform/Essigester 1:1) einheitliches **4** und in Frakt. 19–35 40 mg **4** + polarere Substanzen. **4** konnte bisher nicht zur Kristallisation gebracht werden. $[\alpha]_D^{23} = +43,7^\circ$ ($c = 1,03$, Chloroform). – MS.: M^+ bei m/e 544 = $\text{C}_{30}\text{H}_{40}\text{O}_9$.

KMnO_4 -Abbau von 4 zu 5. 100 mg amorphes Triacetat **4** wurden in 5 ml Aceton gelöst, portionsweise 100 mg fein verriebenes KMnO_4 zugesetzt, bei Raumtemp. gerührt und nach 30 Min.

und nach 75 Min. jeweils 10 mg KMnO_4 zugeben. Nach 2 Std. war nach DC. (Chloroform/Essigester 1:1) kein Ausgangsmaterial mehr vorhanden. Übliche Aufarbeitung ergab 22 mg Säure (mit Chloroform und Chloroform/Äthanol 4:1 ausgeschüttelt) und 28 mg Neutralteil! Im DC. (Chloroform/Essigester 1:1) verhielten sich beide Substanzen gleich. Die 22 mg Säure in 1 ml Methanol gelöst, mit ätherischer CH_2N_2 -Lösung versetzt und 30 Min. bei Raumtemp. stengelassen, lieferte nach dem Einengen 24 mg Methylester **5**. Die 28 mg Neutralteil (!) wurden in gleicher Weise methyliert. Die so erhaltenen 29 mg Methylester zeigten im DC. (Chloroform/Essigester 1:1) den gleichen Rf-Wert wie der Methylester **5** aus der Säurefraktion. Beide Methylester reinigte man auf je 1 Platte $7,5 \times 15$ cm, Schichtdicke 0,2 mm im System Chloroform/Methanol 99:1 und extrahierte das ausgekratzte SiO_2 mit Chloroform/Methanol 9:1. Aus dem Säureteil wurden 15 mg Ätiansäuremethylester **5** gewonnen. 10 mg Kristalle aus Äther/Petroläther vom Smp. $186\text{--}190^\circ$. Der Ester aus dem Neutralteil ergab 20 mg Rohprodukt, von denen aus Äther/Petroläther 12 mg vom Smp. $182\text{--}188^\circ$ kristallisierten. Der Misch-Smp. gab keine Depression, im DC. (Chloroform/Methanol 99:1) verhalten sich beide Substanzen **5** gleich, sie wurden daher vereinigt und 2mal aus Äther/Petroläther umkristallisiert: 10 mg feine Nadelchen vom Smp. $186\text{--}190^\circ$ nach DC. (Chloroform/Methanol 99:1) einheitlich. $[\alpha]_D^{25} = +65,6^\circ$ ($c = 0,95$, Chloroform). – MS.: M^+ bei m/e 508 = $\text{C}_{27}\text{H}_{40}\text{O}_9$.

Partielle Acetylierung von 6 zu 7 und 8. 375 mg **6** wurden in 5 ml Pyridin gelöst, mit 32 ml Benzol verdünnt, mit 3 ml Essigsäureanhydrid versetzt, 20 Std. bei Raumtemp. stengelassen, in Eiswasser gegossen, die Benzol-Schicht abgetrennt, die organische Phase 3mal mit Chloroform/Äther 1:4 ausgeschüttelt, mit 2N Salzsäure und 2N Na_2CO_3 -Lösung und Wasser gewaschen, über Na_2SO_4 getrocknet und eingengt: 300 mg. Darauf schüttelte man die wässrige Phase noch 3mal mit Chloroform/Äthanol 4:1 aus und arbeitete wie vorher auf: 130 mg Rückstand. Beide Ausschüttlungen wurden vereinigt. DC. (Chloroform/Essigester 1:1): 4 Flecke, kein Ausgangsmaterial. Die Chromatographie der obigen 430 mg an 400 g SiO_2 ergab in Frakt. von je 23 ml mit Chloroform/Essigester 2:1 in Frakt. 1–171 87 mg unpolare Substanzen, in Frakt. 172–200 mit Chloroform/Essigester 1:1: die Diacetate **7** und **8**, 189 mg, in Frakt. 201–335 mit Chloroform/Essigester 1:2, Essigester/Methanol 99:1: 180 mg wahrscheinlich Gemisch aus 2 Monoacetaten. Die bei der Chromatographie abgetrennten Monoacetate wurden wie oben beschrieben in Pyridin, Benzol, Essigsäureanhydrid nachacetyliert und an regeneriertem SiO_2 [9] chromatographiert. Die erneute Chromatographie der 189 mg Diacetatgemisch an 150 g regeneriertem SiO_2 [9] ergab mit Essigester/Chloroform 1:1 als Fließmittel in Frakt. von je 10 ml in Frakt. 52–75 65 mg **7** verunreinigt mit **8**, daraus kristallisierten aus Methanol 8 mg nur noch ganz schwach verunreinigtes **7**, Smp. $257\text{--}268^\circ$, in Frakt. 76–81 106 mg **8**. Aus 71 mg **8** kristallisierten aus Methanol/Äther 58 mg Prismen vom Smp. $214\text{--}223^\circ$, die nach der Umkristallisation aus Methanol/Äther 41 mg Prismen vom Smp. $217\text{--}224^\circ$ lieferten und sich im DC. (Essigester/Chloroform 1:1) als einheitlich erwiesen. $[\alpha]_D^{25} = +2,7^\circ$ ($c = 1,02$, Chloroform). – MS.: M^+ bei m/e 502 = $\text{C}_{28}\text{H}_{38}\text{O}_8$.

Umwandlung von 8 in 7. 106 mg **8** wurden in 20 ml Chloroform/Essigester 1:1 gelöst, mit 2,5 g Al_2O_3 basisch nach Brockmann, Aktivitätsstufe I 18 Std. bei Raumtemp. gerührt, Al_2O_3 abgesaugt, ausgewaschen, die Lösung eingengt: 106 mg. DC. (Chloroform/Essigester 1:1): **8** zu **7** etwa 1:1. Durch Chromatographie an regeneriertem SiO_2 [9] mit Chloroform/Essigester 1:1 konnten die Diacetate getrennt werden. Aus Methanol kristallisierten 57 mg **7** vom Smp. $255\text{--}265^\circ$, die Umkristallisation aus Methanol lieferte 10 mg Plättchen vom Smp. $258\text{--}267^\circ$, nach DC. (Chloroform/Essigester 1:1) einheitlich. $[\alpha]_D^{25} = +39,2^\circ$ ($c = 0,97$, Chloroform). – MS.: M^+ bei m/e 502 = $\text{C}_{28}\text{H}_{38}\text{O}_8$.

9 aus 7. 174 mg **7** wurden in 20 ml Aceton gelöst, unter Rühren und Eiskühlung 0,8 ml Kiliani-Mischung [10]⁹⁾ zutropft, 12 Min. bei 0° stengelassen, mit Wasser verdünnt, 3mal mit Chloroform ausgeschüttelt, die Chloroformphasen 1mal mit 2N Na_2CO_3 -Lösung, dann mit Wasser neutral gewaschen, über Na_2SO_4 getrocknet, eingengt: 170 mg Rückstand. DC. (Chloroform/Methanol 97,5:2,5): 1 Fleck etwas unpolarer als das Ausgangsmaterial, wenig Ausgangsmaterial und eine unpolare Verunreinigung. Durch Kristallisation aus Methanol/Äther konnte kein reines Di-O-acetylbufarenogin (**9**) erhalten werden. Die Kristalle und die Mutterlauge (total 210 mg Oxydationsprodukt) vereinigte man daher und chromatographierte an 175 g regeneriertem SiO_2 [9] mit Chloroform/Methanol 7,5:2,5 als Fließmittel in Frakt. von je 9 ml. Frakt. 26–31 lieferte

⁹⁾ Lösung von 2,6 g CrO_3 in 2,3 ml konz. H_2SO_4 und 7 ml Wasser.

145 mg nach DC. (Chloroform/Methanol 97,5:2,5) einheitliches Di-O-acetyl-bufarenogin (**9**) und Frakt. 32–42 33 mg mit **7** verunreinigtes **9**. Aus den obigen 145 mg kristallisierten aus Methanol/Äther 102 mg Nadelchen (in Rosetten) vom Smp. 285–291°; nach 2maligem Umkristallisieren stieg der Smp. auf 289–293°. DC. (Chloroform/Methanol 97,5:2,5): einheitlich. $[\alpha]_D^{26} = +27,3^\circ$ ($c = 1,206$, Chloroform). Misch-Smp. und Misch-DC. (Chloroform/Methanol 97,5:2,5, Essigester) mit «natürlichem» **9** [2] ergab Identität. – MS.: M^+ bei m/e 500 = $C_{28}H_{36}O_8$.

Oxydation von 8 zum Di-O-acetyl-arenobufagin (2). 25 mg **8** wurden in 1 ml Aceton gelöst, unter Eiskühlung mit 0,1 ml *Kiliani*-Mischung [10]²) versetzt und 10 Min. im Eisbad stehen gelassen. Übliche Aufarbeitung ergab 25 mg Rohprodukt. Aus Aceton/Äther kristallisierten 21 mg Prismen vom Smp. 239–246° (nach Sintern ab 220°). Der Misch-Smp. mit Di-O-acetyl-arenobufagin (**2**) aus Ch'an Su [4] gab keine Depression. Im DC. (Chloroform/Essigester 8:2) waren beide Substanzen identisch.

Abbau von Di-O-acetyl-bufarenogin (9) durch KMnO₄. 80 mg **9** wurden in 5 ml Aceton gelöst und mit 85 mg fein verriebenem $KMnO_4$ bei Raumtemp. gerührt, nach 30 Min. und 60 Min. je 10 mg $KMnO_4$ zugesetzt. Nach 2 Std. war nach DC. (Chloroform/Methanol 97,5:2,5) alles Ausgangsmaterial verbraucht. Man engte das Gemisch im Vakuum ein, versetzte den Rückstand mit Wasser und säuerte mit 2N HCl an. Nach 3maligem Ausschütteln mit Chloroform, Neutralwaschen und Einengen: 64 mg Rückstand, der in Chloroform gelöst, nach 3maligem Ausschütteln mit 2N Na_2CO_3 -Lösung und Neutralwaschen mit Wasser 20 mg Neutralteil gab (siehe später unter Ketolacton **13**). Die mit 2N Salzsäure angesäuerten carbonatalkalischen wässrigen Auszüge arbeitete man wie üblich mit Chloroform auf: 40 mg Säure. Die rohe Säure wurde in 5 Tropfen Methanol und 2 ml Äther gelöst, mit ätherischer CH_2N_2 -Lösung 30 Min. bei Raumtemp. stehen gelassen und lieferte nach dem Einengen im Vakuum 42 mg Rohprodukt. DC. (Chloroform/Methanol 97,5:2,5): Hauptmenge Methylester **10**, einige polarere Substanzen. Die Reinigung des Esters erfolgte durch präparative DC. auf einer 20 × 20 cm Platte, Schichtdicke 0,5 mm im Fließmittel Chloroform/Methanol 97,5:2,5. Das ausgekrazte SiO_2 wurde mit Chloroform ausgezogen. Aus den so erhaltenen 26 mg kristallisierten aus Äther/Petroläther 19 mg Ester **10** vom Smp. 188–195°. DC. (Chloroform/Methanol 99:1): noch schwach mit einer polareren Substanz verunreinigt. Die Umkristallisation aus Äther/Petroläther gab Prismen vom Smp. 193–198°, nach DC. (Chloroform/Methanol 99:1) einheitlich. $[\alpha]_D^{23} = +51,6^\circ$ ($c = 1,00$, Chloroform). – MS.: M^+ bei m/e 464 = $C_{25}H_{36}O_8$. – IR.-Spektrum (in Methylenchlorid) identisch mit dem von Schindler [8] veröffentlichten.

Wasserabspaltung aus 10 zu 11. 20 mg **10** wurden in 0,2 ml Pyridin gelöst, auf 0° abgekühlt und mit der ebenfalls auf 0° gekühlten Lösung von 0,15 ml Pyridin/ $SOCl_2$ 1:1 versetzt, 2 Std. bei 0° und 30 Min. bei +23° gehalten, danach mit Eis versetzt, mit Wasser verdünnt und mit Chloroform wie üblich aufgearbeitet: 18 mg Neutrales. Aus Äther/Petroläther kristallisierten 9 mg vom Smp. 175–183°, DC. (Chloroform/Methanol 99:1): einheitlich. Die Mutterlauge durch präparative DC. im obigen System gereinigt: 6 mg nach DC. (Chloroform/Methanol 99:1) reiner Ester **11**. Die Umkristallisation aus Chloroform/Äther/Petroläther ergab Prismen vom Smp. 186–189°. $[\alpha]_D^{23} = +59,0^\circ$ ($c = 1,02$, Chloroform). – MS.: M^+ bei m/e 446 = $C_{25}H_{34}O_7$. $\lambda_{max}^{Athanol} = 293$ nm ($\epsilon = 43$). – Die IR.-Spektren von **11** aus [8] (in Methylenchlorid) und **11** dieser Arbeit (in Chloroform) waren bis auf das Gebiet zwischen 1430 cm^{-1} und 1450 cm^{-1} identisch (Dublett nach dieser Arbeit, breite, schwächere Bande nach [8]). (Nach [8] Smp. 193–195°; $[\alpha]_D = +59,5^\circ$ ($c = 0,477$, Chloroform), $\lambda_{max}^{Athanol} = 295$ nm ($lg \epsilon = 2,53$!)).

Hydrierung von 11 zu 12. 6 mg kristallines **11** wurden in 0,2 ml Essigsäure und 5 mg PtO_2 5 Std. hydriert, darauf filtriert und die Lösung im Vakuum eingeeengt. Aus Äther/Petroläther kristallisierten Prismen vom Smp. 220–230°. Umkristallisation aus Äther/Petroläther lieferte 4 mg vom Smp. 226–230°. DC. (Benzol/Petroläther/Aceton 3:3:2): einheitlich, identisch mit dem in [3] beschriebenen Ester **12**. – MS.: M^+ bei m/e 448 = $C_{25}H_{36}O_7$.

Ketolacton 13 aus dem Abbau von 9. 50 mg Neutralteil aus dem Abbau von **9** durch $KMnO_4$ (nach DC. (Chloroform/Methanol 97,5:2,5): wenig Ausgangsmaterial + eine unpolare Substanz) wurden auf 1 Platte 20 × 20 cm, Schichtdicke 0,5 mm, in Chloroform/Methanol 99:1 getrennt und das SiO_2 mit Chloroform/Methanol 9:1 extrahiert. Es konnten 13 mg nach DC. (Chloroform/Methanol 99:1) fast reines Ketolacton **13** erhalten werden: aus Äther/Petroläther 6 mg **13** vom Smp. 240–260°. Nach dem Umkristallisieren aus Chloroform/Äther/Petroläther und Äther/Petroläther

erhielt man nach DC. (Chloroform/Methanol 99:1) einheitliche Prismen vom Smp. 271–277° (nach Sublimation ab 235°). - MS.: m/e 416 = (C₂₅H₃₂O₈ - CO₂). - $\lambda_{\text{max}}^{\text{Äthanol}}$ Schulter \sim 360 nm ($\epsilon \sim$ 40). - IR. (Chloroform): u.a. etwa 1745 cm⁻¹, 1725 cm⁻¹. (Nach [8] Smp. 286–290°, $\lambda_{\text{max}}^{\text{Äthanol}}$ = 358 nm (lg ϵ = 1,54)).

Oxydation von Arenobufagin (1) zu Argentinogenin (14). 250 mg **1** wurden in 1 ml Essigsäure gelöst, mit 250 mg Bi₂O₃ versetzt, unter Rühren 4 Std. erwärmt (Badtemp. 100°, nach 10 Min. schwarzer Niederschlag, nach 30 Min. gelbes Kristallisat), dann mit 2 ml Wasser und 1 ml 2N Salzsäure versetzt und 4mal mit Chloroform ausgeschüttelt: 270 mg. AgNO₃-DC. (Chloroform/Methanol 95:5): 3-O-Acetyl-argininogenin (**15**), 2 schwache Flecke, Argentinogenin (**14**), Arenobufagin (**1**). Zur Reinigung wurde das Gemisch an 10 g SiO₂ chromatographiert. Frakt. zu 10 ml. Mit Chloroform wurden eluiert: 17 mg unpolare Substanzen, in Frakt. 23–29 54 mg Argentinogenin-monoacetat (**15**), in Frakt. 30–55 29 mg, 2 polarere Substanzen als **15**, in Frakt. 56–98 143 mg Argentinogenin (**14**), das mit einer unpolaren und einer polareren Substanz verunreinigt war. Aus den 54 mg rohem **15** kristallisierten aus Aceton/Äther 30 mg **15** vom Smp. 193–209°. Nach 2maligem Umkristallisieren aus Aceton/Äther wurden 10 mg **15** in Nadeln vom Smp. 197–211° erhalten, die nach DC. (Chloroform/Methanol 95:5) noch ganz schwach verunreinigt waren. $[\alpha]_{\text{D}}^{25} = -1,8^\circ$ ($c = 1,26$, Chloroform). - MS.: M^+ bei m/e 456 = C₂₆H₃₂O₇. - $\lambda_{\text{max}}^{\text{Äthanol}}$ = 289 nm ($\epsilon = 14500$). - IR. (Chloroform): u.a. 1720 cm⁻¹ (verschiedene Carbonylgruppen), 1660 cm⁻¹, 1620 cm⁻¹, 1540 cm⁻¹ (Doppelbindungen). Etwa 1 mg **15** wurde in 5 Tropfen Pyridin und 3 Tropfen Essigsäureanhydrid 17 Std. bei 37° acetyliert und wie üblich aufgearbeitet. Nach DC. (Essigester/Petroläther 4:1 und Chloroform/Methanol 98:2) identisch mit **16** aus **14**. 152 mg rohes Argentinogenin (**14**) wurden auf 6 Platten 20 × 20 cm, Schichtdicke 0,5 mm, mit Chloroform/Methanol 97:3 2mal entwickelt. Von der Hauptzone wurde nur der mittlere Teil ausgekratzt und mit Chloroform/Äthanol 9:1 extrahiert. So konnten 49 mg nach DC. (Chloroform/Methanol 95:5) einheitliches Argentinogenin (**14**) gewonnen werden. Das restliche SiO₂ der Platten ergab nach dem Extrahieren mit Chloroform/Äthanol 9:1 75 mg Gemisch. Aus den 49 mg kristallisierten aus Methanol/Äther 12 mg **14** vom Smp. 225–229° und bei -20° 15 mg **14** vom Smp. 223–228°. Beide Kristallisate waren nach DC. (Chloroform/Methanol 95:5) einheitlich und wurden daher vereinigt und aus Methanol/Äther umkristallisiert: 16 mg Körner von **14**, Smp. 226–230°, DC. (Chloroform/Methanol 95:5): einheitlich. $[\alpha]_{\text{D}}^{24} = -18,7^\circ$ ($c = 0,92$, Chloroform). - MS.: M^+ bei m/e 414 = C₂₄H₃₀O₆. - $\lambda_{\text{max}}^{\text{Äthanol}}$ = 288 nm ($\epsilon = 15400$). - IR. (KBr): identisch mit dem von Rees *et al.* [2] veröffentlichten Spektrum von Argentinogenin (**14**).

Acetylierung von Argentinogenin (14) zu 16. 48 mg Mutterlauge **14** wurden in 1,5 ml Pyridin und 1 ml Essigsäureanhydrid 60 Std. bei 37° stehengelassen. Nach üblicher Aufarbeitung 55 mg rohes **16**. Auf 2 Platten 20 × 20 cm, Schichtdicke 0,5 mm wurde das Acetat **16** mit Chloroform/Methanol 98,5:1,5 chromatographiert. Das SiO₂ extrahierte man mit Chloroform/Äthanol 9:1 und erhielt 41 mg nach DC. (Chloroform/Methanol 98:2) einheitliches Di-O-acetyl-argininogenin (**16**), das bisher nicht kristallisierte. $[\alpha]_{\text{D}}^{24} = +51,4^\circ$ ($c = 1,06$, Chloroform). - MS.: M^+ bei m/e 498 = C₂₈H₃₄O₈. - $\lambda_{\text{max}}^{\text{Äthanol}}$ = 294 nm und 248 nm ($\epsilon = 5350$ und 10800). - IR. (Chloroform): u.a. 1755 cm⁻¹ Schulter(Enolester); 1720 cm⁻¹ (α -Pyron, Ester), 1680 cm⁻¹ (Keton).

LITERATURVERZEICHNIS

- [1] E. Hauser, H. H. A. Linde & S. Spengel, *Helv.* **55**, 3026 (1972).
- [2] R. Rees, O. Schindler, V. Deulofeu & T. Reichstein, *Helv.* **42**, 2400 (1959).
- [3] K. Huber, H. Linde & K. Meyer, *Helv.* **50**, 1994 (1967).
- [4] P. Hofer, H. Linde & K. Meyer, *Helv.* **43**, 1950 (1960).
- [5] R. F. Zürcher, *Helv.* **46**, 2054 (1963).
- [6] N. S. Bhacca & D. H. Williams, *Applications of NMR.-Spectroscopy in Organic Chemistry*, Holden Day Inc., San Francisco, Calif., 1964; L. Gsell & Ch. Tamm, *Helv.* **52**, 551 (1969).
- [7] M. Steiger & T. Reichstein, *Helv.* **21**, 828 (1938); K. Meyer, *Helv.* **32**, 1238 (1949).
- [8] H. Kündig-Hegedüs & O. Schindler, *Helv.* **39**, 904 (1956).
- [9] F. Kaiser, *Arch. Pharmaz.* **299**, 263 (1966).
- [10] H. Kiliani, *Ber. deutsch. chem. Ges.* **46**, 667 (1913).
- [11] H. F. G. Linde, O. Isaac, H. H. A. Linde & D. Živanov, *Helv.* **54**, 1703 (1971).